

鳞毛蕨科植物的系统发育：叶绿体 $rbcL$ 序列的证据

¹李春香 ²陆树刚

¹(中国科学院南京地质古生物研究所现代古生物学和地层学国家重点实验室 南京 210008)

²(云南大学生态学与地植物学研究所 昆明 650091)

Phylogenetic analysis of Dryopteridaceae based on chloroplast $rbcL$ sequences

¹LI Chun-Xiang ²LU Shu-Gang

¹(State Key Laboratory of Palaeobiology and Stratigraphy of Nanjing Institute of Geology and Palaeontology, the Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

²(Institute of Ecology and Geobotany, Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract Dryopteridoid ferns are distributed all over the world, but China and its adjacent regions have the highest species diversity, so China is a key region to study their phylogenetic relationships and evolutionary history. In this study, chloroplast $rbcL$ sequences from 105 species of Dryopteridaceae and their relative lineages were used to reconstruct the phylogenetic trees using the MEGA2 and MrBayes 3.0b4 software. The phylogenetic relationships were inferred using the neighbor-joining, maximum-parsimony and Bayesian analysis, and three methods produced trees with largely congruent topology. These trees reveal that: (1) the species of the Dryopteridaceae in the classification of Ching except for those in *Cyclopetis* are divided into two monophyletic groups corresponding to the two tribes, Dryopterideae Ching and Polysticheae Ching, but the genus *Lithostegia* should be transferred from Polysticheae to Dryopterideae, and the scopes of the two tribes should be extended: the tribe Dryopterideae includes the family Peranemaceae and some species of *Ctenitis* (a genus of the family Tectariaceae in Ching's classification), and the tribe Polysticheae includes the American *Phanerophlebia* and *Polystichopsis*; (2) *Cyclopetis* is isolated from all the other species of Dryopteridaceae and their relative lineages; (3) the family Peranemaceae in Ching's classification may not be a natural group, and should be included in tribe Dryopterideae, and is closely related to *Nothoperanema*; (4) *Cyrtomium* and *Polystichum* are both resolved as paraphyletic, and *Dryopteris* polyphyletic; (5) *Phanerophlebiopsis*, *Leptorumohra* and *Lithostegia* are closely related to *Arachniodes*; *Cyrtogonellum* and some species of *Polystichum* and of *Cyrtomium* form a clade; *Nothoperanema* are closely related to Peranemaceae and some species of *Dryopteris*. The relationships among genera of Dryopteridaceae, the relationship between Peranemaceae and Dryopteridaceae, and that between *Ctenitis* and Dryopteridaceae, and the systemic positions of the genera endemic to China or Asia (*Cyclopetis*, *Nothoperanema*, *Phanerophlebiopsis*, *Leptorumohra*, *Lithostegia* and *Cyrtogonellum*) are also discussed. Our phylogenetic analyses are based on only $rbcL$ sequence data, so the results should be further confirmed using other lines of evidence.

Key words Dryopteridoid ferns, $rbcL$, phylogeny.

2005-05-17 收稿, 2005-12-26 收修改稿。

基金项目: 国家自然科学基金项目(40302003, 30370116); 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KZCX2-SW-130) (Supported by the National Natural Science Foundation of China, Grant Nos. 40302003, 30370116, and the Major Research Project of the Chinese Academy of Sciences, Grant No. KZCX2-SW-130)。

摘要 运用MEGA2和MrBayes 3.0b4软件包对105种鳞毛蕨类及近缘植物(其中新测定36种)的叶绿体DNA *rbcL*基因序列进行系统发育分析, 探讨了其主要分类群(属级水平)的系统演化关系。用最大简约法、邻接法和贝叶斯分析方法构建的系统树基本一致, 结果显示: (1)秦仁昌系统所定义的鳞毛蕨科Dryopteridaceae, 除了拟贯众属*Cyclopetis*外, 均包含在两个单系群之中, 支持鳞毛蕨族Dryopterideae和耳蕨族Polysticheae的成立; 但是鳞毛蕨族还包含秦仁昌系统所定义的球盖蕨科Peranemaceae和三叉蕨科Tectariaceae肋毛蕨属*Ctenitis*的部分种类; 耳蕨族还包含产于美洲的*Phanerophlebia*属和*Polystichopsis*属; 确认石盖蕨属*Lithostegia*属鳞毛蕨族的成员, 且与复叶耳蕨属*Arachniodes*具有较近的亲缘关系。(2)拟贯众属与所分析的其他任何鳞毛蕨类植物的关系都比较疏远, 单独为一支。(3)秦仁昌系统所定义的球盖蕨科与肉刺蕨属*Nothoperanema*聚成一个分支, 属于鳞毛蕨族的成员。(4)鳞毛蕨属*Dryopteris*为多系类群, 耳蕨属*Polystichum*和贯众属*Cyrtomium*均为并系类群。(5)黔蕨属*Phanerophlebiopsis*、毛枝蕨属*Leptorumohra*和石盖蕨属与复叶耳蕨属构成一支; 柳叶蕨属*Cyrtogonellum*与*Polystichum*属和*Cyrtomium*属的部分种类聚成一支; 肉刺蕨属与球盖蕨科及鳞毛蕨属的部分种类聚成一支。对鳞毛蕨科的系统关系、球盖蕨科与鳞毛蕨科的系统关系、肋毛蕨属与鳞毛蕨科的系统关系以及中国或亚洲特有属(拟贯众属、肉刺蕨属、黔蕨属、毛枝蕨属、石盖蕨属和柳叶蕨属)的系统位置进行了讨论。

关键词 鳞毛蕨类植物; *rbcL*; 系统发育

中国是鳞毛蕨类植物种类最丰富的地区, 因此, 中国也是研究鳞毛蕨类植物系统演化关系的最关键地区。鳞毛蕨类植物类群多, 分类难度大, 其主要类群间的系统演化关系一直是蕨类植物学家争论不休的问题, 属间界限也有待进一步研究。有关鳞毛蕨科Dryopteridaceae分类范畴的界定问题, 至今尚存在较大差异。鳞毛蕨类植物过去一直置于三叉蕨科Tectariaceae (Aspidiaceae) (Ching, 1940)。秦仁昌(1965)正式提出把鳞毛蕨类植物从三叉蕨科独立出来, 成立了鳞毛蕨科Dryopteridaceae, 包括13个属, 并根据囊群盖的形态和着生方式, 将其分为鳞毛蕨族Dryopterideae和耳蕨族Polysticheae。秦仁昌(1940, 1978)还将与鳞毛蕨科相近的柄盖蕨属*Peranema* Don、鱼鳞蕨属*Acrophorus* Presl及红腺蕨属*Diocalpe* Bl.另成立为球盖蕨科Peranemaceae。然而, 当今国际上广泛采用的鳞毛蕨科分类范畴(Kramer & Green, 1990)除包括秦仁昌系统中的球盖蕨科外, 还包括秦仁昌系统中的三叉蕨科、蹄盖蕨科Athyriaceae、肿足蕨科Hypodematiaceae、金星蕨科Thelypteridaceae、球子蕨科Onocleaceae、岩蕨科Woodsiaceae等, 而秦仁昌系统所定义的鳞毛蕨科和球盖蕨科均被Kramer和Green(1990)归入鳞毛蕨科的鳞毛蕨族, 并且有些属被合并。由此可见, 鳞毛蕨类植物是蕨类植物中的一个非常异质的类群, 不仅科的范畴(所包含的属)不一致, 属的范畴也不一致, 属间关系也不甚清楚。即使只考虑秦仁昌系统所定义的鳞毛蕨科, 其中一些成员的系统位置也颇有争议, 如肉刺蕨属*Nothoperanema* (Tagawa) Ching过去一直被视为鳞毛蕨属*Dryopteris* Adanson的成员, 而被Kramer和Green(1990)列入鳞毛蕨科中的鳞毛蕨族; 但也有人把它置于肋毛蕨属*Ctenitis* (C. Chr.) C. Chr.(Ito, 1939; Copeland, 1947)。又如石盖蕨属*Lithostegia* Ching仅在命名上就经历了一系列的变动(吴兆洪, 秦仁昌, 1991), 尽管秦仁昌承认它是鳞毛蕨群的成员, 但他同时也指出石盖蕨属侧生囊群盖的特征在薄囊蕨纲Leptosporangiopsida中是独一无二的, 在分类上是一个奇特的属, 其分类位置有待于进一步研究(吴兆洪, 秦仁昌, 1991)。

现有资料表明分子系统学研究可以为蕨类植物的系统演化关系提供较好的证据, 特别是运用叶绿体基因组编码磷酸核酮糖羧化酶大亚基(*rbcL*)基因序列构建的系统树, 已

经为蕨类植物的系统关系提供了很好的证据, 部分鳞毛蕨类植物的代表种类也包括其中(Hasebe et al., 1994, 1995; Pryer et al., 2001a, b; Little & Barrington, 2003)。尤其是Little和Barrington(2003)的研究为我们用分子证据来研究该类群的系统演化关系提供了重要线索, 他们用 *rbcL* 序列数据和形态性状数据探讨耳蕨属的系统发生关系, 涉及了Kramer和Green(1990)系统中鳞毛蕨科的12个属, 秦仁昌(1978)系统中鳞毛蕨科的7个属, 但是很多以亚洲为分布中心的种类并未涉及, 如肉刺蕨属、毛枝蕨属 *Leptorumohra* H. Ito、石盖蕨属等。为了研究鳞毛蕨类植物的系统演化关系, 特别是分布于中国西南部类群的系统位置, 我们采集了来自该地区的鳞毛蕨类及其近缘类群共36种, 测定了它们叶绿体基因组中的 *rbcL* 基因序列, 结合已经发表的序列进行了系统发育分析, 希望为鳞毛蕨类植物的起源、演化提供分子系统学方面的初步证据。根据秦仁昌(1978)系统中关于鳞毛蕨科的定义(图1, 2)、Kramer和Green(1990)系统中鳞毛蕨科鳞毛蕨族的定义及最近有关鳞毛蕨类植物的分子系统学研究结果(Hasebe et al., 1994, 1995; Little & Barrington, 2003), 我们确定了所要分析的类群。首先我们的分析包括秦仁昌(1978)系统中13个属中的12个属的代表(尚无玉龙蕨属 *Sorolepidium* Christ 的材料)。由于Kramer和Green(1990)系统中的鳞毛蕨族除了秦仁昌系统中鳞毛蕨科所包含的属以外, 还包括秦仁昌系统中另外一科——球盖蕨科(即柄盖蕨属、鱼鳞蕨属和红腺蕨属), 因此我们将这3属也包括在我们的分析中。另外最近有关鳞毛蕨类植物的 *rbcL* 系统树还包括肋毛蕨属(Little & Barrington, 2003), 因此本文的分析也包括肋毛蕨属的部分种类。对现有的 *rbcL* 序列, 我们主要是选择在中国有分布的类群。本研究试图为秦仁昌系统中鳞毛蕨科植物划分为鳞毛蕨族和耳蕨族提供分子证据, 并探讨球盖蕨科、肋毛蕨属与鳞毛蕨科的关系以及亚洲或中国特有属——毛枝蕨属、柳叶蕨属 *Cyrtogonellum* Ching、黔蕨属 *Phanerophlebiopsis* Ching、石盖蕨属和肉刺蕨属的系统位置。

1 材料和方法

1.1 实验材料

供试材料为新鲜叶片, 样品采集后迅速在硅胶中干燥, 回到实验室进行DNA提取及序列分析。凭证标本保存在云南大学蕨类植物标本室(PYU)(其中拟贯众 *Cyclophlebiopsis crenata* (Fée) C. Chr. 的凭证标本保存在中国科学院华南植物研究所标本馆, IBSC)及实验室。样品产地等信息详见表1。

1.2 总DNA提取

总DNA提取采用CTAB法(Hillis et al., 1996), 并根据施苏华等(1996)的方法略作修改。

1.3 序列测定

1.3.1 引物的设计 扩增 *rbcL* 基因所用引物根据Little和Barrington(2003)设计, 略作修改, 具体序列见Li等(2004)。

表1 用于 $rbcL$ 基因序列测定的样本及相关信息Table 1 Samples used in the $rbcL$ gene sequencing and their information

物种 ¹⁾ Species ¹⁾	采样地点 Locality	标本号 Voucher/No.	基因库序列号 GenBank Accession No.
峨眉鱼鳞蕨 <i>Acrophorus emeiensis</i> Ching ex S. H. Wu	四川峨眉山 Mt. Emeishan, Sichuan	Lu SG/EM15 (PYU)	DQ054522
鱼鳞蕨 <i>Acrophorus stipellatus</i> (Wall.) Moore	云南新平哀牢山 Mt. Ailaoshan, Xinping, Yunnan	Lu SG/A14 (PYU)	DQ054510
草质假复叶耳蕨 <i>Acrorumohra hasseltii</i> (Bl.) Ching	海南乐东尖峰岭 Jianfengling, Ledong, Hainan	Lu SG/V108 (PYU)	DQ054519
阔羽复叶耳蕨 <i>Arachniodes assamica</i> (Kuhn) Ohwi	云南屏边大围山 Mt. Daweishan, Pingbian, Yunnan	Lu SG/A45 (PYU)	DQ054508
台湾复叶耳蕨 <i>Arachniodes globisora</i> (Hayata) Ching	云南广南 Guangnan, Yunnan	Lu SG/C72 (PYU)	AY587122
斜方复叶耳蕨 <i>Arachniodes rhomboidea</i> (Wall. ex Mett.) Ching	云南昆明金殿公园 Jindian Park, Kunming, Yunnan	Lu SG/B12 (PYU)	DQ054506
顶囊肋毛蕨 <i>Ctenitis apiciflora</i> (Wall. ex Mett.) Ching	云南贡山 Gongshan, Yunnan	Lu SG/H17 (PYU)	DQ054521
膜边肋毛蕨 <i>Ctenitis clarkei</i> (Bak.) Ching	云南昆明金殿公园 Jindian Park, Kunming, Yunnan	Lu SG/D29 (PYU)	DQ054525
泡鳞肋毛蕨 <i>Ctenitis mariformis</i> (Ros.) Ching	云南新平哀牢山 Mt. Ailaoshan, Xinping, Yunnan	Lu SG/W23 (PYU)	DQ054520
拟贯众 <i>Cyclopetis crenata</i> (Fée) C. Chr.	海南昌江 Changjiang, Hainan	Dong/1021 (IBSC)	DQ054517
镰羽柳叶蕨 <i>Cyrtogonellum falculobum</i> Ching ex Y. T. Hsieh	云南西畴 Xichou, Yunnan	Lu SG/J29 (PYU)	DQ054514
西畴柳叶蕨 <i>Cyrtogonellum xichouense</i> S. K. Wu & S. Mitsuda	云南西畴 Xichou, Yunnan	Lu SG/J30 (PYU)	DQ054515
红腺蕨 <i>Diacalpe aspidioides</i> Bl.	海南五指山 Mt. Wuzhishan, Hainan	Lu SG/V35 (PYU)	DQ054523
离轴红腺蕨 <i>Diacalpe christensenae</i> Ching	云南昆明筇竹寺 Qiongzhu Temple, Kunming, Yunnan	Lu SG/90 (PYU)	DQ054518
基生鳞毛蕨 <i>Dryopteris basisora</i> Christ	云南墨江 Mojiang, Yunnan	Lu SG/C28 (PYU)	AY587119
大平鳞毛蕨 <i>Dryopteris bodinieri</i> (Christ) C. Chr.	云南广南 Guangnan, Yunnan	Lu SG/H4 (PYU)	AY587120
二型鳞毛蕨 <i>Dryopteris cochleata</i> (Buch.-Ham. ex D. Don) C. Chr.	云南景谷 Jinggu, Yunnan	Lu SG/C17 (PYU)	AY587121
连合鳞毛蕨 <i>Dryopteris conjugata</i> Ching	云南文山薄竹山 Mt. Bozhushan, Wenshan, Yunnan	Lu SG/C77 (PYU)	AY587116
桫椤鳞毛蕨 <i>Dryopteris cycadina</i> (Franch. & Sav.) C. Chr.	云南墨江 Mojiang, Yunnan	Lu SG/C38 (PYU)	AY587115
红盖鳞毛蕨 <i>Dryopteris erythrosora</i> (Eaton) O. Ktze.	云南昆明金殿公园 Jindian Park, Kunming, Yunnan	Lu SG/B33 (PYU)	AY587111
大羽鳞毛蕨 <i>Dryopteris gamblei</i> (Hope) C. Chr.	云南昆明金殿公园 Jindian Park, Kunming, Yunnan	Lu SG/B29 (PYU)	AY587112
黑鳞鳞毛蕨 <i>Dryopteris lepidopoda</i> Hayata	云南广南 Guangnan, Yunnan	Lu SG/C65 (PYU)	AY587117

表1(续) Table 1 (continued)

物种 ¹⁾ Species ¹⁾	采样地点 Locality	标本号 Voucher/No.	基因库序列号 GenBank Accession No.
密鳞鳞毛蕨 <i>Dryopteris pycnopteroides</i> (Christ) C. Chr.	云南文山薄竹山 Mt. Bozhushan, Wenshan, Yunnan	Lu SG/C79 (PYU)	AY587114
两色鳞毛蕨 <i>Dryopteris setosa</i> (Thunb.) Akasawa	云南西畴 Xichou, Yunnan	Lu SG/J26 (PYU)	AY587123
纤维鳞毛蕨 <i>Dryopteris sinofibrillosa</i> Ching	云南文山薄竹山 Mt. Bozhushan, Wenshan, Yunnan	Lu SG/C60 (PYU)	AY587118
稀羽鳞毛蕨 <i>Dryopteris sparsa</i> (Buch.-Ham. ex D. Don) O. Ktze.	云南昆明金殿公园 Jindian Park, Kunming, Yunnan	Lu SG/B27 (PYU)	AY587124
近密鳞鳞毛蕨 <i>Dryopteris subpycnopteroides</i> Ching ex Fraser-Jenk.	云南文山薄竹山 Mt. Bozhushan, Wenshan, Yunnan	Lu SG/C58 (PYU)	AY587113
三角鳞毛蕨 <i>Dryopteris subtriangularis</i> (Hope) C. Chr.	云南屏边大围山 Mt. Daweishan, Pingbian, Yunnan	Lu SG/I27 (PYU)	AY587110
四回毛枝蕨 <i>Leptorumohra quadripinnata</i> (Hayata) H. Ito	云南昆明筇竹寺 Qiongzu Temple, Kunming, Yunnan	Lu SG/79 (PYU)	DQ054507
毛枝蕨 <i>Leptorumohra miquelianiana</i> (Maxim. ex Franch. & Sav.) H. Ito	浙江天目山 Mt. Tianmushan, Zhejiang	Lu SG/P8 (PYU)	DQ054524
石盖蕨 <i>Lithostegia foeniculacea</i> (Hook.) Ching	云南大理 Dali, Yunnan	Lu SG/K40 (PYU)	DQ054516
有盖肉刺蕨 <i>Nothoperanema hendersonii</i> (Bedd.) Ching	云南屏边大围山 Mt. Daweishan, Pingbian, Yunnan	Lu SG/A49 (PYU)	DQ054511
无盖肉刺蕨 <i>Nothoperanema shikokianum</i> (Makino) Ching	云南西畴 Xichou, Yunnan	Lu SG/J27 (PYU)	DQ054509
肉刺蕨 <i>Nothoperanema squamisetum</i> (Hook.) Ching	云南昆明筇竹寺 Qiongzu Temple, Kunming, Yunnan	Lu SG/68 (PYU)	DQ054512
柄盖蕨 <i>Peranema cyatheoides</i> Don	云南贡山 Gongshan, Yunnan	Lu SG/4A3 (PYU)	DQ054513
长叶黔蕨 <i>Phanerophlebiopsis neopodophylla</i> (Ching) Ching ex Y. T. Xie	云南西畴 Xichou, Yunnan	Lu SG/J4 (PYU)	DQ054505

1) 物种的名称根据《中国植物志》(吴兆洪, 1999; 吴兆洪, 王铸豪, 1999; 谢寅堂等, 2000; 孔宪需等, 2001)。

1) Classification in *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (Wu, 1999; Wu & Wang, 1999; Hsieh et al., 2000; Kung et al., 2001) is followed.

1.3.2 PCR扩增 扩增反应在Perkin Elmer GeneAmp PCR System 9600上进行。反应体积为50 μ L, 其成分为: 2 μ L DNA模板(约2 ng, 由Gel Doc图像分析仪测得), 2.5 mmol/L MgCl₂, 0.2 mmol/L dNTPs, 1 \times buffer, 0.25 μ mol/L引物, 1 μ g/ μ L BSA, 5% DMSO。扩增程序为: 94 $^{\circ}$ C, 2 min预变性。循环温度94 $^{\circ}$ C, 0.5 min; 42 $^{\circ}$ C 1 min; 72 $^{\circ}$ C, 1 min; 40次重复。最后72 $^{\circ}$ C延伸7 min。扩增产物经0.8%琼脂糖电泳后用Gel Doc图像分析仪观察。对于PCR反应特异性高, 无明显非特异反应条带的扩增产物, 用Wizard PCR DNA Purification System (Promega)直接纯化; 对于有明显非特异反应的PCR产物, 先以低熔点琼脂糖凝胶电泳分离并割取目标片段, 再用上述纯化系统进行纯化, 均按照说明书上的步骤进行操作。

表2 由基因库中下载用于本文系统发育分析的DNA序列

Table 2 GenBank accession numbers of downloaded DNA sequences in this study

分类群 Taxon	基因库 序列号 GenBank Accession No.	分类群 Taxon	基因库 序列号 GenBank Accession No.
<i>Arachniodes aristata</i> Blume	U30608	<i>Dryopteris sublacerata</i> Christ	AY268853
<i>Arachniodes denticulata</i> (Sw.) Ching	AF537223	<i>Dryopteris tokyoensis</i> (Matsum.) C. Chr.	AY268861
<i>Cyrtomidictyum lepidocaulon</i> (Hook.) Ching	AF537224	<i>Dryopteris uniformis</i> Makino	AY268871
<i>Cyrtomium aequibasis</i> (C. Chr.) Ching	AY545491	<i>Nothoperanema rubiginosum</i> (Brack.) A. R. Sm. & D. D. Palmer	AY268836
<i>Cyrtomium caryotideum</i> C. Presl	AY545490	<i>Phanerophlebia umbonata</i> Underw.	AF537233
<i>Cyrtomium falcatum</i> (L. f.) Presl	AF537226	<i>Polystichopsis chaerophylloides</i> (Poir.) C. V. Morton	AF537234
<i>Cyrtomium fortunei</i> J. Sm.	AF537227	<i>Polystichum acutidens</i> Christ	AY545505
<i>Cyrtomium hookerianum</i> (Presl) C. Chr.	AY545489	<i>Polystichum attenuatum</i> Tag. & Iwatsuki	AY545503
<i>Cyrtomium macrophyllum</i> (Makino) Tagawa	AY545500	<i>Polystichum brachypterum</i> (Kuntze) Ching	AY545501
<i>Cyrtomium urophyllum</i> Ching	AY545492	<i>Polystichum christii</i> Ching	AY545486
<i>Dryopteris aemula</i> (Ait.) Kuntze	AY268881	<i>Polystichum chunii</i> Ching	AY545498
<i>Dryopteris amurensis</i> Christ	AY268867	<i>Polystichum craspedosorum</i> (Maxim.) Diels	AF537238
<i>Dryopteris bissetiana</i> (Bak.) C. Chr.	AY268862	<i>Polystichum deltodon</i> (Bak.) Diels	AF537239
<i>Dryopteris campyloptera</i> (Kze.) Clarkson	AY268866	<i>Polystichum dielsii</i> Christ	AY545485
<i>Dryopteris carthusiana</i> (Vill.) H. P. Fuchs	AY268883	<i>Polystichum eximium</i> (Mett. Ex Kuhu) C. Chr.	AY545493
<i>Dryopteris championii</i> (Benth.) C. Chr.	AY268863	<i>Polystichum fibrilloso-paleaceum</i> (Kodama) Tagawa	AF537243
<i>Dryopteris crassirhizoma</i> Nakai	AY268870	<i>Polystichum grandifrons</i> C. Chr.	AY545484
<i>Dryopteris cystolepidota</i> (Miq.) C. Chr.	AY268878	<i>Polystichum jizhushanense</i> Ching	AY545504
<i>Dryopteris dilatata</i> (Hoffm.) A. Gray	AY268848	<i>Polystichum lachenense</i> (Hook.) Bedd.	AF537244
<i>Dryopteris expansa</i> (Presl) Fraser-Jenk. & Jermyn	AY268844	<i>Polystichum lentum</i> (Don) Moore	AF537246
<i>Dryopteris filix-mas</i> (L.) Schott	AY268845	<i>Polystichum longipaleatum</i> Christ	AY545495
<i>Dryopteris formosana</i> (Christ) C. Chr.	AY268857	<i>Polystichum makinoi</i> (Tagawa) Tagawa	AY545494
<i>Dryopteris fragrans</i> (L.) Schott	AY268865	<i>Polystichum neolobatum</i> Nakai	AF537252
<i>Dryopteris goeringiana</i> (Kunze) Koidz.	AY268855	<i>Polystichum nepalense</i> (Spreng.) C. Chr.	AY545499
<i>Dryopteris hondoensis</i> Koidz.	AY268856	<i>Polystichum omeiene</i> C. Chr.	AY545497
<i>Dryopteris juxtaposita</i> Christ	AY268875	<i>Polystichum pycnopterum</i> (Christ) Ching	AY545502
<i>Dryopteris lacera</i> (Thunb.) O. Ktze.	AY268860	<i>Polystichum semifertile</i> (Clarke) Ching	AY545496
<i>Dryopteris odontoloma</i> (Moore) C. Chr.	AY268872	<i>Polystichum stenophyllum</i> Christ	AF537256
<i>Dryopteris pacifica</i> (Nakai) Tagawa	AY268879	<i>Polystichum nudisorum</i> Ching	AY545488
<i>Dryopteris pallida</i> Fomin	AY268874	<i>Polystichum subacutidens</i> Ching ex L.L. Xiang	AY545488
<i>Dryopteris polylepis</i> (Franch. & Sav.) C. Chr.	AY268864	<i>Polystichum tripterion</i> (Kunze) Presl	U30832
<i>Dryopteris remota</i> Hayata	AY268858	<i>Polystichum tsus-simense</i> (Hook.) J. Sm.	AF537258
<i>Dryopteris sacrosancta</i> Koidz.	AY268877	<i>Polystichum yuanum</i> Ching	AY545487
<i>Dryopteris sieboldii</i> (van Houtte) Kuntze	AY268880	<i>Rumohra adiantiformis</i> (G. Forst.) Ching	U05942
<i>Dryopteris stenolepis</i> (Baker) C. Chr.	AY268889		

1.3.3 序列测定 序列测定在ABI 377 DNA自动测序仪(Applied Biosystems, USA)上完成, 除了扩增引物外, 内部引物424F和940R(Little & Barrington, 2003)也用于测序。序列数据已输入美国生物信息中心(NCBI)的基因库(GenBank)中, 序号见表1。

1.4 序列分析

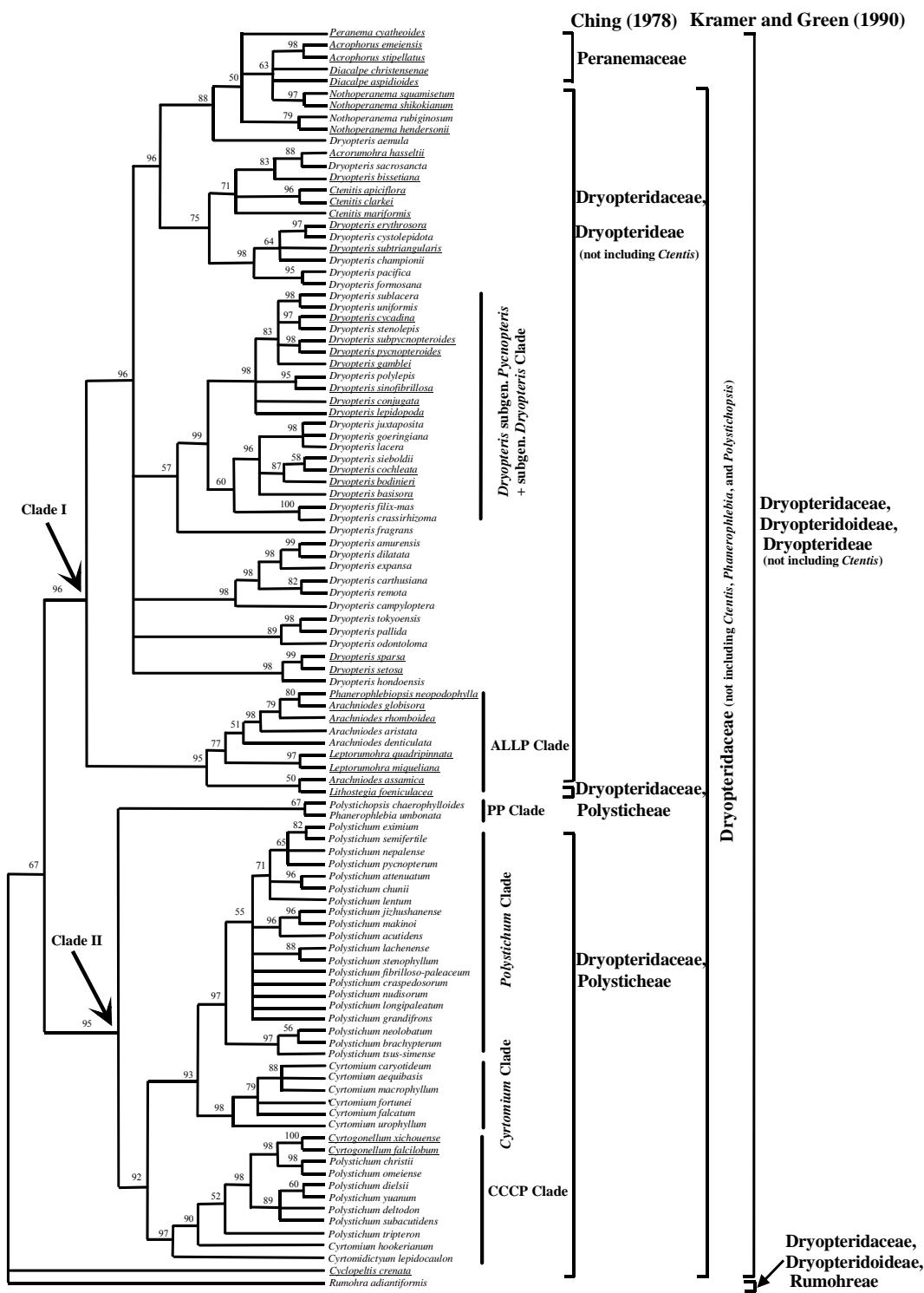
用CLUSTAL X软件(Thompson et al., 1997)进行对位排列。对位排列后的序列分别用MEGA2(Kumar et al., 2001)软件中的最大简约法(maximum parsimony, MP)和邻接法(neighbor-joining, NJ)及MrBayes V3.0b4(Huelsenbeck & Ronquist, 2001)中的贝叶斯方法构建系统树。在简约法中采用启发式搜索(heuristic search)方法, 邻接法分析中的遗传距离

采用Kimura's two-parameter算法, 转换/颠换值设为1.6。在用贝叶斯方法构建系统树之前, 先用MrModeltest 2.0 (Nylander, 2004)软件获得最适合本研究 *rbcL* 序列矩阵的核苷酸替代模型及相关参数, 此模型为GTR+G模型(Yang, 1994)。贝叶斯法分析中采用MCMCMC (Metropolis-coupled Markov Chain Monte Carlo)算法, 以随机树为起始树, 运行1000000代, 每100代取样1次, 开始的1000个样本作为老化样本(burn-in samples)舍弃。在构建系统树时, 根据 Little 和 Barrington(2003) 以及 Hasebe 等(1994, 1995) 构建的系统树, 以 *Rumohra adiantiformis* (G. Forst.) Ching 作为外类群。

2 结果

本文新测定的36种鳞毛蕨类植物及其近缘类群的叶绿体 *rbcL* 基因序列GenBank收录号见表1。在对位排列矩阵中 *rbcL* 基因序列长度为1318 bp, 无插入或缺失, 其中405个位点为可变位点(占序列长度的30.73%), 244个位点为信息位点(占序列长度的18.51%)。

用3种分析方法(MP、NJ和贝叶斯)分别构建了鳞毛蕨类植物及其近缘类群的 *rbcL* 系统树, 不同方法所获得的系统树在拓扑结构上基本一致, 仅在自展支持率上略有差异。本文分别列出用贝叶斯分析方法构建的系统树(图1)和用MP方法构建的严格一致树(图2), 其中简约法分析共获得154棵简约树, 获得简约一致树的树长为1048步, 一致性指数(CI)为0.4709、存留指数(RI)为0.7910。三种分析方法均表明: (1)除了拟贯众以外, 本文所分析的鳞毛蕨类植物及近缘类群构成一个支持率很高的单系群(尽管贝叶斯分析的后验概率仅为67, 但MP和NJ系统树的抽样自展支持率却分别高达91和92)。这一高支持率的单系群又分为两个支持率很高的单系分支: 即秦仁昌系统中所定义的球盖蕨科、鳞毛蕨科鳞毛蕨族、石盖蕨属和肋毛蕨属构成一个单系分支(图1, 2, Clade I); 秦仁昌系统中所定义的鳞毛蕨科耳蕨族和产于美洲的 *Phanerophlebia* Presl 和 *Polystichopsis* (J. Sm.) Holttum (PP Clade) 构成另一个单系分支(图1, 2, Clade II), 这两个单系分支的MP和NJ系统树的抽样自展支持率(bootstrap value, BS)和贝叶斯分析的后验概率(posterior probability values, PP)均很高, 特别是贝叶斯分析的后验概率均达95%以上。(2)在第一个单系分支(图1, 2, Clade I)中, 复叶耳蕨属 *Arachniodes* Blume、*Lithostegia* 属、*Leptorumohra* 属和 *Phanerophlebiopsis* 属的亲缘关系较近, 聚成一分支(图1, ALLP Clade); *Dryopteris* 属、*Nothoperanema* 属、*Ctenitis* 属、假复叶耳蕨属 *Acrorumohra* (H. Ito) H. Ito 和球盖蕨科聚成一分支, 在这一支系中, 很明显 *Dryopteris* 属是多系发生的; 但是其中秦仁昌系统所定义的平鳞亚属 subgen. *Dryopteris* 和奇羽亚属 subgen. *Pycnopteris* (Moore) Ching (谢寅堂等, 2000) 的种类却聚成支持率很高的分支(图1, 2, subgen. *Pycnopteris*+subgen. *Dryopteris* Clade)。尽管贝叶斯分析表明 *Nothoperanema* 属、*Ctenitis* 属、*Acrorumohra* 属、球盖蕨科与 *Dryopteris* 属的部分种类具有一定的亲缘关系, 但 NJ 和 MP 分析显示它们的位置比较孤立, *rbcL* 序列分析还不能解决它们的系统位置, 但是我们的分析可以肯定的是它们均包含在 *Dryopteris* 属中。3)第二个单系分支(图1, 2, Clade II)由秦仁昌系统中所定义的鳞毛蕨科耳蕨族和产于美洲的 *Phanerophlebia* 属和 *Polystichopsis* 属 (PP Clade) 构成, 而 *Phanerophlebia* 属和 *Polystichopsis* 属 (PP Clade) 是耳蕨族的姊妹群(图1, 2)。耳蕨族由3个分



支构成: 鞭叶蕨属 *Cyrtomidictyum* Ching、柳叶蕨属、贯众属 *Cyrtomium* Presl 和耳蕨属 *Polystichum* Roth. 的部分种类聚成第一个支系(图1, 2, CCCP Clade); 第二个支系全部由贯众属种类构成(图1, 2, *Cyrtomium* Clade); 第三个支系全部由耳蕨属种类构成(图1, 2, *Polystichum* Clade), 很显然贯众属和耳蕨属均为并系类群。

3 讨论

3.1 鳞毛蕨科植物的系统关系

鳞毛蕨科是秦仁昌从三叉蕨科独立出来的(秦仁昌, 1965)。秦仁昌根据囊群盖的形态和着生方式, 将鳞毛蕨科划分成两个族, 即鳞毛蕨族和耳蕨族(秦仁昌, 1965; 吴兆洪, 秦仁昌, 1991), 这些类群作为自然类群一直沿用至今(谢寅堂等, 2000)。本文 *rbcL* 基因序列分析的结果显示秦仁昌系统中的鳞毛蕨科除了拟贯众属 *Cyclopetis* J. Sm. 外均包含在一个单系群中, 进而又分别属于两个单系分支, 因此支持鳞毛蕨族和耳蕨族的成立, 但是其范围及某些属的位置应作调整。石盖蕨属由于其囊群盖的特殊性, 曾置于耳蕨族之下(吴兆洪, 秦仁昌, 1991), 本文进一步确认石盖蕨属应为鳞毛蕨族的成员。球盖蕨科与鳞毛蕨科中鳞毛蕨族的系统关系密切, 如果依据本文 *rbcL* 基因序列分析的结果, 球盖蕨科不应作为一个自然的科, 应并入鳞毛蕨科。另外, 三叉蕨科中肋毛蕨属的部分种类也应归入鳞毛蕨科, 因此, 鳞毛蕨科与三叉蕨科之间的界线还需增加资料进一步确认。本研究亦进一步确认产于美洲的 *Phanerophlebia* 属(曾认为与中国特有属黔蕨属相近)和 *Polystichopsis* 属(曾认为是复叶耳蕨属的异名)是耳蕨族的成员, 而 *Phanerophlebiopsis* 属和 *Arachniodes* 属则是鳞毛蕨族的成员, 由此可见 *Phanerophlebiopsis* 属与 *Phanerophlebia* 属关系比较疏远, *Arachniodes* 属与 *Polystichopsis* 属亲缘关系亦比较疏远。本研究支持广义耳蕨属(*Polystichum* s.l., 即除了耳蕨属, 还包括贯众属、柳叶蕨属和鞭叶蕨属)(Kramer & Green, 1990; Little & Barrington, 2003; Li et al., 2004)的成立, 支持狭义耳蕨属及贯众属均为并系类群(Li et al., 2004; Lu et al., 2005)。

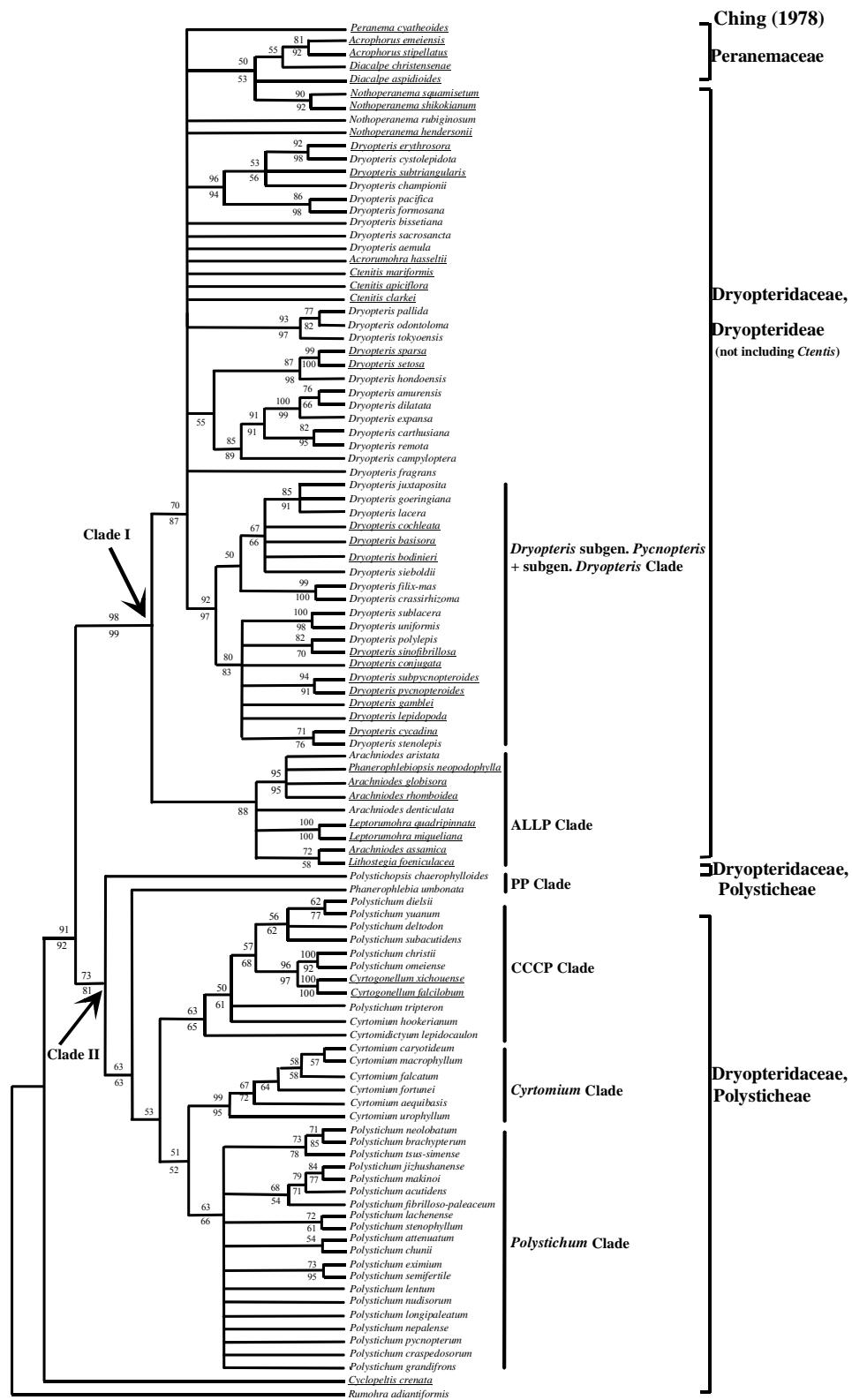
3.2 球盖蕨科与鳞毛蕨科的系统关系

球盖蕨科是秦仁昌1940年从“Polypodiaceae”中独立的科(Ching, 1940), 秦仁昌在1978年进一步确认(秦仁昌, 1978)。球盖蕨科与秦仁昌系统(1978)中的鳞毛蕨科在中柱、脉序、鳞片等特征上相同, 但球盖蕨科与鳞毛蕨科的孢子囊群盖属于不同的类型, 前者的

←

图1 基于 *rbcL* 序列用 MrBayes V3.0b4 分析软件构建的鳞毛蕨科及近缘植物的系统树 各分支上的数值为后验概率值; 下划线的类群为本文新测定的种类, 其余类群的序列由基因库中下载。ALLP Clade 代表 *Arachniodes*、*Lithostegia*、*Leptorumohra* 和 *Phanerophlebiopsis*; PP Clade 代表 *Phanerophlebia* 和 *Polystichopsis*; CCCP Clade 代表 *Cyrtomidictyum*、*Cyrtogonellum*、*Cyrtomium* 和 *Polystichum*。

Fig. 1. The phylogenetic tree constructed based on *rbcL* sequences of Dryopteridaceae and their close lineages using MrBayes V3.0b4 software. Numbers above branches represent the posterior probability values. Species underlined are those sequenced in this paper, others are downloaded from the GenBank. ALLP Clade represents *Arachniodes*, *Lithostegia*, *Leptorumohra* and *Phanerophlebiopsis*; PP Clade represents *Phanerophlebia* and *Polystichopsis*; CCCP Clade represents *Cyrtomidictyum*, *Cyrtogonellum*, *Cyrtomium* and *Polystichum*.



孢子囊群盖是下位的, 而后者的孢子囊群盖是上位的。又因为球盖蕨科的孢子囊群盖的形态特征与桫椤科Cyatheaceae的相同, 因此有人推测球盖蕨科是比鳞毛蕨科原始的类群, 认为球盖蕨科是鳞毛蕨群主干上的一个原始成员(秦仁昌, 1978; 吴兆洪, 秦仁昌, 1991)。但是, 如仅从本文的分子系统学证据看, 球盖蕨科不仅是秦仁昌系统(1978)中鳞毛蕨科鳞毛蕨族的成员, 与鳞毛蕨科中的肉刺蕨属关系密切, 而且是其中进化或特化的类群。

3.3 肋毛蕨属与鳞毛蕨科的系统关系

本文所分析的顶囊肋毛蕨、膜边肋毛蕨和泡鳞肋毛蕨属于肋毛蕨属(吴兆洪, 1999), 但新近也有人将其置于轴鳞蕨属*Dryopsis* Holttum & Edwards(董仕勇, 陆树刚, 2001)。轴鳞蕨属是1986年从肋毛蕨属中独立出来的新属(Holttum & Edwards, 1986)。该属植物以孢子囊群着生于小脉的顶端, 鳞片无粗筛孔等特征区别于肋毛蕨属。轴鳞蕨属隶属于秦仁昌系统所定义的三叉蕨科, 三叉蕨科以羽片主脉上面呈圆形隆起等特征区别于鳞毛蕨科, 另一方面, 三叉蕨科又以泛热带分布为主有别于鳞毛蕨科。但是三叉蕨科中的轴鳞蕨属则主要分布于亚热带高山亚高山地区, 其生境与鳞毛蕨科鳞毛蕨属的纤维鳞毛蕨组sect. *Fibrillosae* Ching(谢寅堂等, 2000)相似。从本文的*rbcL*序列分析的证据看, 轴鳞蕨属与鳞毛蕨科中的假复叶耳蕨属、鳞毛蕨属同属一个支系(图1), 轴鳞蕨属无疑是鳞毛蕨科的成员, 这暗示着我们可能需要对肋毛蕨属重新界定, 而鳞毛蕨属的范围和定义也值得重新考虑。

3.4 亚洲特有或中国特有属的系统位置

3.4.1 拟贯众属 约有5种, 主要分布于东南亚热带地区, 中国仅有1种, 产海南。该属植物以其盾状着生的囊群盖而置于秦仁昌系统中鳞毛蕨科耳蕨族之下, 但其侧生羽片与叶轴之间有关节这一特征在鳞毛蕨科中极其独特。从本文的分子系统学证据看, 拟贯众属在鳞毛蕨科中的系统位置极其孤立, 与所分析的其他任何鳞毛蕨类植物的关系都比较疏远, 既不属于鳞毛蕨族, 也不属于耳蕨族, 单独为一支系。关于拟贯众属的系统位置, 还需要收集更多的材料进行综合分析。

3.4.2 肉刺蕨属 有5种, 亚洲至非洲分布, 但其分布中心在亚洲。该属植物过去曾被视为鳞毛蕨属的成员, 甚至有人把它归入肋毛蕨属(Ito, 1939; Copeland, 1947), 但它与后者在形态上具有显著的差异(吴兆洪, 秦仁昌, 1991)。Geiger和Ranker(2005)的系统发育分析也显示出肉刺蕨属包含在鳞毛蕨属内, 本文*rbcL*序列分析结果也支持肉刺蕨属为鳞毛蕨属的成员。但是肉刺蕨属以小羽轴或主脉上面具有肉质粗刺有别于鳞毛蕨属, 而该特征与球盖蕨科中的柄盖蕨属和红腺蕨属相近, 因此, 肉刺蕨属在某些形态特征上表现出鳞

←

图2 基于*rbcL*序列用MEGA2分析软件构建的鳞毛蕨科及近缘类群最简约严格一致树(树长为1048步, *CI*为0.4709, *RI*为0.7910) 各分支上的数值为抽样自展值(500次重复抽样分析: 分支上方为简约法抽样自展值, 分支下方为邻接法抽样自展值), 下划线的类群为本文新测定的种类, 其余类群的序列由基因库中下载。

Fig. 2. The strict consensus tree with tree length=1048 steps, consistency index (*CI*)=0.4709, retention index (*RI*)=0.7910) constructed based on *rbcL* sequences of Dryopteridaceae and their close taxa with MEGA2 software. Bootstrap values of 500 maximum parsimony analysis replicates are shown above branches, bootstrap values of neighbor-joining analysis are shown below branches. Species underlined are those sequenced in this paper, others are downloaded from the GenBank.

毛蕨属与柄盖蕨属、红腺蕨属的中间类型(吴兆洪, 秦仁昌, 1991)。本文 $rbcL$ 序列分析结果支持肉刺蕨属与球盖蕨科及鳞毛蕨属的部分种类具有较近的亲缘关系(图1, 2), 但是这些类群的演化关系还需要进一步研究。

3.4.3 黔蕨属 中国特有属, 特产于我国贵州、云南、广西和湖南等地区。本属植物在形体上颇似产于南美洲的 $Phanerophlebia$ 属, 但其根状茎横卧至横走, 叶近生至远生, 囊群盖圆肾形, 以缺刻着生。而 $Phanerophlebia$ 属根状茎短而直立, 叶簇生, 囊群盖盾状着生(吴兆洪, 秦仁昌, 1991)。在亚洲, 与黔蕨属相近的唯一属为复叶耳蕨属。本文 $rbcL$ 序列分析结果显示黔蕨属与 $Phanerophlebia$ 属关系疏远。黔蕨属属于鳞毛蕨科鳞毛蕨族, 且与复叶耳蕨属的关系最近, 而 $Phanerophlebia$ 属则属于耳蕨族。

3.4.4 毛枝蕨属 又称拟复叶耳蕨属, 有3种, 仅分布于东亚, 与复叶耳蕨属的区别在于叶为薄草质, 干后草绿色, 沿各回羽轴上有单细胞的柔毛(吴兆洪, 秦仁昌, 1991)。本文的分析结果显示毛枝蕨属与 $Phanerophlebiopsis$ 属、石盖蕨属和复叶耳蕨属构成一个支系(图1, ALLP Clade), 表明这些类群之间存在一定的亲缘关系, 但其演化关系还需要采集更多的材料做进一步研究。

3.4.5 石盖蕨属 只有1种, 为单种属。石盖蕨在我国仅云南(文山薄竹山、大理苍山、高黎贡山、哀牢山等)和西藏有分布; 缅甸北部、印度东北部和锡金也有分布, 模式标本采自锡金(谢寅堂等, 2000)。石盖蕨在命名上经历了一系列的大变动, 曾被归入 $Polystichum$ 属和柄盖蕨属(秦仁昌, 1978)。1965年, 秦仁昌将其归入鳞毛蕨科耳蕨族, 但它奇特的坚革质、近黑色、长卵形的侧生囊群盖在薄囊蕨纲中是独一无二的, 被称为“一个在分类上极为奇特无匹的单种属”(吴兆洪, 秦仁昌, 1991)。在秦仁昌系统中石盖蕨属被置于鳞毛蕨科耳蕨族(秦仁昌, 1965, 1978; 吴兆洪, 秦仁昌, 1991; 谢寅堂等, 2000)。本文的分析结果显示, 石盖蕨属属于鳞毛蕨科鳞毛蕨族, 并且与阔羽复叶耳蕨成姊妹群关系。

3.4.6 柳叶蕨属 有8种(孔宪需等, 2001), 分布于我国的云南、贵州、广西、四川和台湾, 只有柳叶蕨1种分布至越南。因此, 柳叶蕨属为中国半特有类群。本文的分析结果支持柳叶蕨属与耳蕨属和贯众属的部分种类聚成一个分支, 这与最近Lu等(2005)的分析相一致。

致谢 中山大学施苏华教授、黄椰林和周仁超博士提供诸多技术和学术意见, 中国科学院华南植物研究所的董仕勇博士赠送拟贯众材料, 谨表谢忱。

参 考 文 献

Ching R-C (秦仁昌). 1940. On natural classification of the family “Polypodiaceae”. *Sunyatensia* 5: 201–268.
 Ching R-C (秦仁昌). 1965. *Dryopteridaceae*—A new fern family. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报) 10: 1–5.
 Ching R-C (秦仁昌). 1978. The Chinese fern families and genera: systematic arrangement and historical origin. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报) 16 (3): 1–19; (4): 16–37.
 Copeland E B. 1947. *Genera Filicum*. Waltham Massachusetts: *Chronica Botanica Co.*
 Dong S-Y (董仕勇), Lu S-G (陆树刚). 2001. Classification of the genus *Dryopsis* (Tectariaceae) from Yunnan. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究) 23: 181–187.
 Geiger J M, Ranker T A. 2005. Molecular phylogenetics and historical biogeography of Hawaiian *Dryopteris*

(Dryopteridaceae). Molecular Phylogenetics and Evolution 34: 392–407.

Hasebe M, Omori T, Nakazawa M, Sano T, Kato M, Iwatsuki K. 1994. *rbcL* gene sequences provide evidence for the evolutionary lineages of leptosporangiate ferns. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 91: 5730–5734.

Hasebe M, Wolf P G, Pryer K M, Ueda K, Ito M, Sano R, Gastony G J, Yokoyama J, Manhart J R, Murakami N, Crane E H, Haufler C H, Hauk W D. 1995. Fern phylogeny based on *rbcL* nucleotide sequences. American Fern Journal 85: 134–181.

Hillis D M, Mable K, Larson A, Davis S K, Zimmer E A. 1996. Sequencing and cloning. In: Hillis D M, Moritz C M, Mable B K eds. Molecular Systematics. Massachusetts: Sinauer Sunderland. 321–384.

Holttum R E, Edwards P J. 1986. Studies in the fern genera allied to *Tectaria* II. *Dryopsis*, a new genus. Kew Bulletin 41: 171–204.

Hsieh Y-T (谢寅堂), Wu S-G (武素功), Lu S-G (陆树刚). 2000. Dryopteridaceae (1). In: Flora Reipublicae Popularis Sinicae (中国植物志). Beijing: Science Press. 5 (1): 1–220.

Huelsenbeck J P, Ronquist F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. Bioinformatics 17: 754–755.

Ito H. 1939. Polypodiaceae—Dryopteridaceae. I. In: Nakai T, Honda M eds. Nova Flora Japonica 4: 88–89.

Kramer K U, Green P S. 1990. Pteridophytes and gymnosperms. In: Kubitzki K ed. The Families and Genera of Vascular Plants. Berlin: Springer-Verlag. 1–277.

Kung H-S (孔宪需), Zhang L-B (张丽兵), Chu W-M (朱维明), He Z-R (和兆荣), Hsieh Y-T (谢寅堂). 2001. Dryopteridaceae (1). In: Flora Reipublicae Popularis Sinicae (中国植物志). Beijing: Science Press. 5 (2): 1–222.

Kumar S, Tamura K, Jakobsen I B, Nei M. 2001. MEGA2: molecular evolutionary genetics analysis software. Bioinformatics 17: 1244–1245.

Li C-X, Lu S-G, Yang Q. 2004. Asian origin for *Polystichum* (Dryopteridaceae) based on *rbcL* sequences. Chinese Science Bulletin 49: 1146–1150.

Little D P, Barrington D S. 2003. Major evolutionary events in the origin and diversification of the fern genus *Polystichum* (Dryopteridaceae). American Journal of Botany 90: 508–514.

Lu J-M, Li D-Z, Gao L-M, Cheng X, Wu D. 2005. Paraphyly of *Cyrtomium* (Dryopteridaceae): evidence from *rbcL* and *trnL-F* sequence data. Journal of Plant Research 118: 129–315.

Nylander J A A. 2004. MrModeltest 2.0. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, Sweden.

Shi S-H (施苏华), Zhang Q (章群), Chen Y-Q (陈月琴), Tang S-Q (唐绍清), Qu L-H (屈良鹄). 1996. A simple method for isolation of total RNA and DNA from silicagel-dried and fresh leaves of plants. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni (中山大学学报) 35: 103–105.

Pryer K M, Schneider H, Smith A R, Cranfill R, Wolf P G, Hunt J S, Sipes S D. 2001a. Horsetails and ferns are a monophyletic group and the closest living relatives to seed plants. Nature 409: 618–622.

Pryer K M, Smith A R, Hunt J S, Dubuisson J Y. 2001b. *rbcL* data reveal two monophyletic groups of filmy ferns (Filicopsida: Hymenophyllaceae). American Journal of Botany 88: 1118–1130.

Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins D G. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nuclear Acids Research 25: 4876–4882.

Wu S-H (吴兆洪), Ching R-C (秦仁昌). 1991. Fern families and genera of China (中国蕨类植物科属志). Beijing: Science Press. 1–565.

Wu S-H (吴兆洪). 1999. Peranemaceae. In: Flora Reipublicae Popularis Sinicae (中国植物志). Beijing: Science Press. 4 (2): 216–238.

Wu S-H (吴兆洪), Wang C-H (王铸豪). 1999. Aspidiaceae. In: Flora Reipublicae Popularis Sinicae (中国植物志). Beijing: Science Press. 6 (1): 1–103.

Yang Z. 1994. Estimating the pattern of nucleotide substitution. Journal of Molecular Evolution 39: 105–111.